

НАУЧНИ ОБЗОРИ
SCIENTIFIC REVIEWS

**ПАТОГЕНЕТИЧНИ ФАКТОРИ НА ЕОЗИНОФИЛНОТО ВЪЗПАЛЕНИЕ
ПРИ БРОНХИАЛНА АСТМА**

А. Спасова

СБАЛББ „Света София”

**PATHOGENETIC FACTORS OF EOSINOPHILIC INFLAMMATORY PROCESS
IN BRONCHIAL ASTHMA**

A. Spasova

Specialized Hospital for Active Treatment of Pulmonary Diseases "Sv. Sofia"

Резюме: Изучаването на бронхиалната астма като хронично възпалително заболяване доведе до разработването на методи за мониториране на възпалителния процес. Еозинофилната клетка има основна роля в еозинофилното възпаление. Контролът на протеините, които се освобождават от еозинофилите при тяхната активация, има информационна роля. Еозинофилният катионен протеин (ECP) се използва за диагностика на бронхиална астма като прогностичен показател при „свиркащите” кърмачета, маркер за експозиция на алерген, за оценка на резултатите от провокационни тестове и за тежестта на астмата, за контрол на ефекта от лечението, както и за проследяване на контролиращото лечение. Въпреки това комплексността на алергичното възпаление задължава да се вземат предвид редица фактори, които възпират в очакванията за информативността на ECP.

Ключови думи: бронхиална астма, еозинофилна клетка, еозинофилен катионен протеин

Адрес за кореспонденция: Д-р А. Спасова, СБАЛББ „Света София”, бул. “Акад. Ив. Гешов” 17, 1431 София

Summary: The concept of bronchial asthma as a chronic inflammatory disease has led to the development of methods of monitoring the underlying inflammatory process. Eosinophil is one of the main protagonists in this process, and the control of the proteins that are released by eosinophil, when it is activated, could provide valuable information for this purpose. The ECP has been used in the diagnosis of asthma, in the prognosis of wheezing infants, as a marker for the exposure to the allergen, to evaluate the results of provocation tests, and asthma severity, to control the effect of different anti-inflammatory treatments as well as to monitor the performance of these treatments. However, the great complexity of asthmatic inflammation obliges us to take into account a series of considerations, limiting our expectations for ECP.

Key words: bronchial asthma, eosinophilic cell, eosinophil cation protein

Address for correspondence: A. Spasova, SHATPD Sveta Sofia, 17 Acad. Iv. Geshov, Bg – 1431 Sofia

Развитието на възпалителна реакция е основен механизъм, чрез който гръбначните реагират протективно на инфекциозни и неинфекциозни стимули. Възпалението е широко дефинирано като защитна реакция на васкуларизираните тъкани към увреда. Докато този процес по своята същност е протективен и самоограничаващ се, то алергично-

то възпаление на дихателните пътища води до увреда на тъканите.

Днес се приема, че централно място в патогенезата на астмата заема имунното възпаление, локализирано в бронхиалната стена. Възпалението на дихателните пътища определя интензитета на бронхиалната реактивност и обструкция, бело-

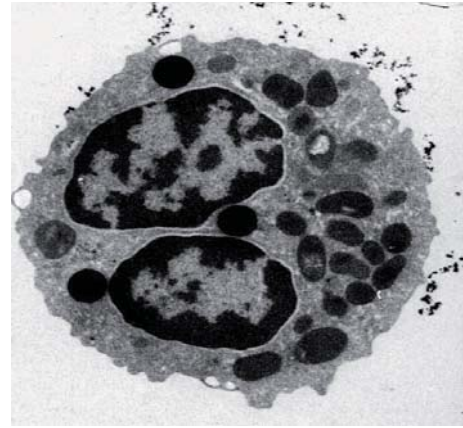
дробната увреда, ремоделирането, а с това – и тежестта на заболяването. Възпалителният процес, резултат от взаимодействието на клетъчни, хуморални и неврални фактори, обуславя обструкция на дихателните пътища с комплексна патогенеза, но до голяма степен дължаща се на спазъм на гладката мускулатура на бронхите, провокиран от медиаторите, освободени от клетките на алергичното възпаление – еозинофили, мастоцити, неутрофили, макрофаги. По време на тази ранна фаза на имунния отговор, алерген-индуцирана и IgE зависима, действат многобройни медиаторни субстанции (хистамин, триптаза, левкотриени, простагландини, тромбоксани, неuropeптиди от локални аферентни нерви и ацетилхолин от постганглийни аферентни нерви) [2, 3]. Възпалението обуславя и феномена “бронхиална хиперреактивност”, при който стимули от околната среда, като физическо натоварване, вдишване на студен въздух, дим, химикали, силен емоционален стрес и инфекции, поради повишена чувствителност на дихателните пътища предизвикват епизодични и обратими, спонтанно или след лечение, обструктивни епизоди [3]. Обструкцията се засилва и от съпътстващия едем на бронхиалната мукоза, възникващ в резултат на повишения съдов пермеабилитет. Хиперсекрецията на мукус, с променен вискозитет и реологични свойства, е медирана от IL-4, 9 и 13, както и от неутрофилната еластаза, левкотриени и непротеазни неутрофилни производни [1].

През втората, късната фаза на имунния отговор възпалителният процес продължава с освобождаването на цитокини, които активират еозинофилите, базофилите и мастоцитите. Хроничното възпаление води до ремоделиране на бронхиалната стена в резултат на хиперплазия на гладката мускулатура на бронхите, инфилтрация с клетъчни елементи и повишено колагеново отлагане под базалната мембрана.

ЕОЗИНОФИЛИ

През последните десетилетия широко се възприе ключовата роля на еозинофилите в патогенезата на бронхиалната астма (БА), което дава отражение и в описанието на астмата като хроничен еозинофилен десквамативен бронхит [7]. За първи път през 1876 г. Paul Ehrlich описва еозинофилните левкоцити и установява високия афинитет към еозин, откъдето идва и името им. Докато в периферна кръв нормалният еозинофилен брой е 1-4% (до 400-450 кл./mm³), в тъканите нараства от 100 до 300 пъти, което дава основание да се приеме, че еозинофилът е повече тъканна клетка. Еозинофилите са гранулоцити, произхождащи от CD34+

миелоиден предшественик с относително кратък живот – 3-6 дни в костния мозък, 6-12 часа в циркулацията и 2-5 дни в съединителната тъкан (фиг. 1).



Фиг. 1. Електронномикроскопска снимка на еозинофилен левкоцит

Регулаторните механизми на активация и дегрануация на еозинофилите преминават през три етапа [11]. Първият етап е свързан с процесите на пролиферация и диференциация, регулирани от GM-CSF и IL-3, които при липса на имунологичен стимул протичат на по-ниско ниво. При активация на Th2 лимфоцитите, с последващ синтез на цитокини (IL-5), се наблюдава повишена продукция на еозинофили в костния мозък и преминаването им в циркулацията. Вторият етап е миграция на еозинофилите от циркулацията в тъканите – този процес се осъществява в четири стъпки и е свързан с участието на редица фактори, сред които хемотаксани – PAF, LT B4, RANTES, еозинофил-специфичният хемокин – еотаксин, адхезионни молекули – селектини, интегрини и междуклетъчни адхезионни молекули – ICAM-1,2 и VCAM-1, и цитокини [25, 32]. На трето място е активирането на еозинофила след свързването му с антигените посредством разположените по повърхността му рецептори за IgE с нисък афинитет – FcεR1, за C3 фракцията на комплемента и рецептори за IgG с нисък и с умерен афинитет FcγR1 [2].

Преминаването на еозинофилния левкоцит в активно състояние протича със:

1. Повишаване броя на мембранните рецептори за FcγR, FcεR1 и за комплемента C3.
2. Повишен оксидативен метаболизъм.
3. Повишен синтез на арахидонови деривати и най-вече на LT C4.
4. Повишена цитотоксична активност.

На седмия час след алергенната провокация, по време на късната фаза на имунния отговор е доказано нарастване на еозинофилния брой в материал от храчка на астматици, асоциирано с поява на еозинофил-базофилни прогенитори и еозинофили

в периферната кръв [36]. Прогениторната CD34+ клетка носи рецептор за IL-5, което предполага неговата първична роля за развитието на еозинофила. Наличието на еозинофилни прогенитори и еозинофилни растежни фактори IL-3, IL-5, GM-CSF в белите дробове на астматици е показател за локална еозинофилна диференциация [36]. Миграцията на еозинофили в дихателните пътища се иницира от локални хемоатрактантни фактори. Множество хемотаксисни субстанции действат върху еозинофили, включително липидни медиатори (LTB₄, PAF), анафилотоксини (C3a, C5a) и хемокини (MIP-1 α , RANTES, еотаксин, MCP-2, 3, 4, IL-8, IL-16).

Докато наличието на еозинофилия при пациенти с алергия и астма е добре документирано, то все още има неяснота относно механизмите, чрез които тези клетки участват в алергичното възпаление [14]. Еозинофили се разглеждат като главна ефекторна клетка, заемаща основна роля в патогенезата на астмата, а еозинофил-медираната увреда на респираторния епител – основен патогенетичен механизъм при астмата. Повишеният еозинофилен брой при астматици е резултат от повишената еозинофилопоеза и бързото им отделяне от костния мозък [36]. Подобно на другите левкоцити еозинофили, преминали във възпалените тъкани, се отстраняват посредством апоптоза. Този феномен на програмирана клетъчна смърт позволява елиминирането на опасните или излишни клетки, като по този начин осигурява поддържане на тъканната хомеостаза. Счита се, че дефект в еозинофилната апоптоза участва в развитието и персистирането на алергичното възпаление при астматиците [17].

Освен като ефекторни клетки в алергичното възпаление, еозинофили играят роля и на модулатори на имунния отговор чрез синтезираните и отделяни от тях значително количество цитокини и хемокини. Цитокините, продуцирани от еозинофили, включват автокринни-еозинофилактивиращи фактори (IL-3, IL-5, GM-CSF), имунорегулиращи цитокини (IL-2, IL-4, IL-1, TGF- α , IFN- ϕ), проинфламаторни цитокини (IL-1, IL-6, TNF- α , IL-16) и хемокини (IL-8, MIP-1, RANTES).

Субстанции, секретирани от еозинофили:

- *Гранулни протеини*

Eosinophil cation protein – еозинофилен катионен протеин (ECP)

Eosinophil peroxidase – еозинофилна пероксидаза (EPO)

Eosinophil protein X – еозинофилен протеин X (EPX) или еозинофилен невротоксин (EDN)

Major Basic Protein – главен алкален протеин (MBP)

Protein crystals Charcot – Layder – протеин на Шарко-Лайдеровите кристали (CLC)

- *Цитокини*

IL-2, IL-4, IL-5

IL-6

TNF- α

GM-CSF

MIF

- *Хемокини*

RANTES

Еотаксин

- *Растежни фактори*

TGF- α , TGF- β

- *Ензими*

β -глюкоронидаза

лизозими

еластаза

каталаза

арилсулфатаза B

- *Липидни медиатори*

Цистенил левкотриени LTC₄, LTD₄, LTE₄

Тромбоцит-активиращ фактор PAF

Циклооксигеназа COX

5-Липооксигеназа 5-LO

- *Кислородни радикали*

H₂O₂, O₂, OH.

Специфичните еозинофилни гранули са мембранно свързани и съдържат високо базични протеини, които се секретират в екстрацелуларното пространство след стимулация. Всяка гранула е изградена от кристалоподобна сърцевина, с правоъгълна или квадратна форма, заобиколена от матрикс с по-ниска плътност. Сърцевината се състои почти изцяло от MBP (главен базичен протеин), докато матриксът съдържа трите еозинофилни протеина – ECP (еозинофилен катионен протеин), EPO (еозинофилна пероксидаза) и EPX/EDN (еозинофилен протеин X). Тези деривати на еозинофилните гранули, с потенциални цитотоксични свойства по отношение на бронхиалния епител и пневмоцитите, са отговорни за тъканната увреда, настъпваща при еозинофилната инфилтрация на бронхиалната мукоза. Те се считат като главни виновници за разграждането на адхезионните молекули, които поддържат епителния интегритет [9]. Разрушаването и десквамацията на епитела, съчетани с деградация на матрикса, водят до хиперреактивност, регенерация и необратимо ремоделиране и фиброзиране на дихателните пътища.

MBP (Major Basic Protein) е селективен антагонист на M2 мускариновите рецептори (авторецептор). Загубата на M2 мускариновата рецепторна функция има за резултат повишаване тонуса на дихателните пътища поради отделяне на ацетил-

холин и потенциране на вагус-медиран рефлексорен бронхоспазм и бронхиална хиперреактивност. МВР е и стимулиратор на хистаминовото освобождаване от базофилите и мастните клетки.

Липидните телца са места с повишен синтез на липооксигеназа и циклооксигеназа – дериватни ейкозаноиди. Еозинофилите са отговорни за продукцията на значителни количества цистеинил левкотриени, особено LTC-4. Цистеинил левкотриените водят до контракция на гладката мускулатура на бронхите (100-1000 пъти по-силна бронхоконстрикция от хистамина), повишават съдовия пермеабилитет, секретията на мукус, намаляват мукоцилиарния клирънс, стимулират еозинофилното и неутрофилното натрупване в дихателните пътища, пролиферацията на гладката мускулатура и водят до неврална дисфункция.

ЕСР, ЕРХ и ЕРО се считат за специфични еозинофилни продукти, докато МВР се произвежда и от базофилите [14]. Във връзка с това проучванията се фокусираха върху ЕСР, ЕРХ и ЕРО като индиректни показатели за оценка на еозинофилната активност и алергичното възпаление. Въпреки че някои автори приемат ЕРО като по-чувствителен показател за астма от ЕСР [6], преобладава обратното становище [19, 21]. Клиничните проучвания, проведени върху ЕРО в детска възраст, са относително малко [19, 21, 28, 37], повечето данни са от изследвания на ЕСР и ЕРХ [21, 16, 22, 34].

ЕОЗИНОФИЛЕН КАТИОНЕН ПРОТЕИН

ЕСР е 18-21 kDa протеин от фамилията на рибонуклеаза А, с биологични свойства, свързани с функцията на еозинофила. Като силна основа участва в защитата срещу паразити и в патофизиологията на хроничното алергично възпаление. ЕСР води до ексфолиация на респираторния епител, стимулира дегранулацията на мастните клетки и инхибира Т-клетъчната активност (фиг. 2) [13].



Фиг. 2. Молекулен строеж на ЕСР

ЕСР е изолиран за първи път от човешка миелоидна клетка през 1971 г. и е идентифициран

като еозинофилен гранулен протеин през 1975 г. [5]. Отделеният ЕСР действа като активен цитокин и невротоксин, преминаващ през мембраната на таргетните клетки най-вероятно чрез образуване на пори. Нивото на ЕСР в биологичните течности е индикатор за еозинофил-специфична активация и дегрануляция и се използва за диагностициране и клинично мониториране на алергичните възпалителни заболявания.

Първият доклад за ЕСР, публикуван през 1977 г., съобщава за корелация между серумното ниво на ЕСР и броя на еозинофилите в периферна кръв [4]. Предполагало се е, че количественото определяне на ЕСР в серум може да е полезно при проучването на еозинофилната обмяна, оборот и функция *in vivo*. Днес ЕСР се използва като диагностичен [35] и прогностичен маркер за риск от астма при деца с рецидивиращи бронхообструктивни прояви [23, 27, 30], при оценка на провокационни тестове и тежест на астмата [10, 31], както и за мониториране на ефекта от провежданото противовъзпалително лечение [26].

Серумното ниво на ЕСР зависи от фактори като температура на инкубация [29], време на центрофугиране [18], вид на използваните епруветки [18] и др. Отчитайки повишената концентрация на този маркер в серума и при други заболявания – алергичен ринит, atopичен дерматит и паразитоза [8], както и денонощните колебания, свързани с ендогенната кортизолова секреция [37], все повече се налага изследването на ЕСР в храчка като по-специфичен и обективен метод за оценка на алергичното възпаление при деца с астма. Еозинофилията в храчка има сензитивност 70% и специфичност 90% за астмата, а серумният ЕСР е с чувствителност 50% и специфичност 50% [38].

При стабилна астма се наблюдава дву- до трикратно нарастване на нивото на ЕСР в храчка. Екстремно високи нива на ЕСР (> 1000 µg/L) са регистрирани при деца с тежка астма в пристъп [25].

ЕСР КАТО ПРЕДИКТОР НА АСТМАТА В ДЕТСКА ВЪЗРАСТ

Nagayama и сътр. [24] след изследване на ЕСР и триптаза в храчка докладват за статистически значима разлика в концентрацията на ЕСР, позволяваща диференцирането на три фенотипа на „свиркащо“ дишане: астматици, „рецидивиращи свиркачи“ и деца с първи епизод на бронхиална обструкция. Повишени са стойностите на ЕСР в храчка и при деца с астма спрямо тези с хроничен бронхит [39]. За съжаление обаче активация на еозинофилите може да се наблюдава и при неастма-

тици [20], както и невинаги се установява еозинофилия при активност на астмата [35].

ЕСР И ТЕЖЕСТ НА АСТМАТА

Еозинофилният брой в храчка и концентрацията на ЕСР в серум и храчка са полезни при диференцирането на астматици от неастматици, но са с ниска диагностична стойност за определянето на астматични подгрупи според тежестта на протичане [15]. Gibson и сътр. [12] при проучване върху 146 деца с астма установяват положителна корелация между честотата на бронхообструктивните епизоди за последните 12 месеца и нивата на еозинофилите и ЕСР в храчка. Информативността на ЕСР обаче като показател за настоящата клинична симптоматика и корелацията му с функционалните показатели е несигурна [12]. Според Fujimoto и сътр. [10] съществува обратна зависимост между концентрацията на ЕСР и броя на еозинофилите в храчка, от една страна, и функционалните показатели на дишане FEO_1 и FEO_1/FVK – от друга, както и положителна корелация между ЕСР и тежестта на астмата. Резултатите на други изследователи го опровергават [31]. Като цяло по-изразена е зависимостта между концентрацията на ЕСР и клиничната симптоматика при деца с лека и средно тежка астма, отколкото с белодробните им показатели.

ЕСР И БРОНХИАЛНА ХИПЕРРЕАКТИВНОСТ

БХР е кардинален белег на БА, свързан с тежестта на астмата, честотата на екзацербациите и необходимостта от лечение. Според Ronchi и сътр. [28] съществува слаба корелация между еозинофилния брой в храчка и концентрацията на ЕСР и тежестта на БХР. Това вероятно се дължи на факта, че бронхиалната хиперреактивност е комплексен механизъм, който се поддържа не само от клетките на възпалението, но и от настъпилото ремоделиране на бронхиалната стена.

ЕСР И РЕМОДЕЛИРАНЕ НА ДИХАТЕЛНИТЕ ПЪТИЩА

Zagai и сътр. [40] потвърждават зависимостта между еозинофилното възпаление и ремоделирането на бронхиалното дърво. Техните данни сочат за директно участие на еозинофилите и ЕСР във фиброзната процес и следователно – в ремоделирането на дихателните пътища при астма. Приема се, че взаимодействието на еозинофилите с мезенхимните клетки спомага за ремоделиране на екстрацелуларния матрикс, а ЕСР е медиатор на фиброз-

ните промени, настъпващи в базалната мембрана. Това е един от механизмите, по който взаимодействието еозинофил-екстрацелуларен матрикс води до ремоделиране на дихателните пътища при астма.

Проучването е направено с помощта на Медицинския университет – София, Съвет по медицинска наука, финансиращ научните изследвания по проект Грант № 31/2012 год.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Димитров, В. Клетки на алергичното възпаление. Клинична алергология, 2001, 29.
2. Попов, Т. Алергично възпаление. Клинична алергология, 2001, 106.
3. Проблемът бронхиална астма. Ред. Ж. Милева. 1994.
4. Юркова, В. и Д. А. Роси. Еозинофили и ЕСР в бронхоалвеоларна лаважна течност при пациенти с лека астма. – Пневмология и фтизиатрия, **39**, 2004, 1.
5. Vadar, A. et al. Correlation of eosinophil cationic protein with severity of asthma. – J. Ayub. Med. Coll. Abbottabad, **16**, 2004, № 3, 66-71.
6. Bjornsson, E. et al. Eosinophil peroxidase: a new serum marker of atopy and bronchial hyper-responsiveness. – Respir. Med., **90**, 1996, № 1, 39-46.
7. Bousquet, J. et al. Eosinophilic inflammation in asthma. – N. Engl. J. Med., **323**, 1990, № 15, 1033-1039.
8. Chen, S. T. et al. Correlation of immunoglobulin E, eosinophil cationic protein, and eosinophil count with the severity of childhood perennial allergic rhinitis. – J. Microbiol. Immunol. Infect., **39**, 2006, № 3, 212-218.
9. Frigas, E., S. Motojima et G. J. Gleich. The eosinophilic injury to the mucosa of the airways in the pathogenesis of bronchial asthma. – Eur. Respir. J. Suppl., **13**, 1991, 123s-135s.
10. Fujimoto, K. et al. Eosinophil cationic protein levels in induced sputum correlate with the severity of bronchial asthma. – Chest, **112**, 1997, 1241-1247.
11. Gibson, P. G., R. L. Henry et P. Thomas. Noninvasive assessment of airway inflammation in children: induced sputum, exhaled nitric oxide, and breath condensate. – Eur. Respir. J., **16**, 2000, № 5, 1008-1015.
12. Gibson, P. G. et al. Relationship between induced sputum eosinophils and the clinical pattern of childhood asthma. – Thorax, **58**, 2003, № 2, 116-121.
13. Gleich, G. J. The eosinophil and bronchial asthma: current understanding. – J. Allergy Clin. Immunol., **85**, 1990, № 2, 422-436.
14. Gleich, G. J. et C. R. Adolphson. The eosinophilic leukocyte: structure and function. – Adv. Immunol., **39**, 1986, 177-253. Review.
15. Hoekstra, M. O. et al. Eosinophils and eosinophil-derived proteins in children with moderate asthma. – Eur. Respir. J., **9**, 1996, № 11, 2231-2235.
16. Ishigaki, N. et al. Relation between serum eosinophil cationic protein (ECP) level and asthma attack in children. – Alergi, **49**, 2000, № 11, 1093-1103.
17. Kankaanranta, H. et al. Delayed eosinophil apoptosis in asthma. – J. Allergy Clin. Immunol., **106**, 2000, (1 Pt 1), 77-83.
18. Koh, Y. I. et S. Choi. Blood eosinophil counts for the prediction of the severity of exercise-induced bronchospasm in asthma. – Respir. Med., **96**, 2002, № 2, 120-125.
19. Krug, N. et al. Intracellular expression and serum levels of eosinophil peroxidase (EPO) and eosinophil cationic protein in asthmatic children. – Clin. Exp. Allergy, **29**, 1999, № 11, 1507-1515.

20. Lee, C. H., H. Y. Chuang et C. C. Shih. Correlation of serum total IgE, eosinophil granule cationic proteins, sensitized allergens and family aggregation in atopic dermatitis patients with or without rhinitis. – *J. Dermatol.*, **31**, 2004, № 10, 784-793.
21. Lonnkvist, K. et al. Eosinophil markers in blood, serum, and urine for monitoring the clinical course in childhood asthma: impact of budesonide treatment and withdrawal. – *J. Allergy Clin. Immunol.*, **107**, 2001, № 5, 812-817.
22. Marguet, C. et al. Eosinophil cationic protein and interleukin-8 levels in bronchial lavage fluid from children with asthma and infantile wheeze. – *Pediatr. Allergy Immunol.*, **12**, 2001, № 1, 27-33.
23. Nagayama, Y. et al. Eosinophils and basophilic cells in sputum and nasal smears taken from infants and young children during acute asthma. – *Pediatr. Allergy Immunol.*, **6**, 1995, № 4, 204-208.
24. Nagayama, Y. et al. Analysis of sputum taken from wheezy and asthmatic infants and children, with special reference to respiratory infections. – *Pediatr. Allergy Immunol.*, **12**, 2001, № 6, 318-326.
25. Norzila, M. Z. et al. Interleukin-8 secretion and neutrophil recruitment accompanies induced sputum eosinophil activation in children with acute asthma. – *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, **161**, 2000, (3 Pt 1), 769-774.
26. Oh, J. W. et al. Analysis of induced sputum to examine the effects of inhaled corticosteroid on airway inflammation in children with asthma. – *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, **82**, 1999, № 5, 491-496.
27. Oymar, K. et R. Bjerknes. Is serum eosinophil cationic protein in bronchiolitis a predictor of asthma? – *Pediatr. Allergy Immunol.*, **9**, 1998, № 4, 204-207.
28. Parra, A. et al. Eosinophil soluble protein levels, eosinophil peroxidase and eosinophil cationic protein in asthmatic patients. – *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.*, **9**, 1999, № 1, 27-34.
29. Pronk-Admiraal, C. J. et P. C. Bartels. Effect of clotting temperature and eosinophil concentration on the eosinophil cationic protein concentration in serum. – *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **54**, 1994, № 2, 185-188.
30. Raghavender, B. et J. B. Smith. Eosinophil cationic protein in tracheal aspirates of preterm infants with bronchopulmonary dysplasia. – *J. Pediatr.*, **130**, 1997, № 6, 944-947.
31. Ronchi, M. C. et al. Do sputum eosinophils and ECP relate to the severity of asthma? – *Eur. Respir. J.*, **10**, 1997, № 8, 1809-1813.
32. Rosi, E. et al. Sputum analysis, bronchial hyperresponsiveness and pulmonary function in asthma: results of a factor analysis. – *J. Allergy Clin. Immunol.*, **103**, 1999, 232-237.
33. Sorva, R. et al. Eosinophil cationic protein in induced sputum as a marker of inflammation in asthmatic children. – *Pediatr. Allergy Immunol.*, **8**, 1997, № 1, 45-50.
34. Tauber, E. et al. Urinary eosinophil protein X in children: the relationship to asthma and atopy and normal values. – *Allergy*, **55**, 2000, № 7, 647-652.
35. Turner, M. O. et al. Exacerbation of asthma without eosinophilia. – *Thorax*, **50**, 1995, 1057-1061.
36. Wardlaw, A. J. Eosinophil trafficking in asthma. – *Clin. Med.*, **1**, 2001, № 3, 214-218.
37. Wolthers, O. D. et C. Heuck. Circadian variations in serum eosinophil cationic protein, and serum and urine eosinophil protein X. – *Pediatr. Allergy Immunol.*, **14**, 2003, № 2, 130-133.
38. Pizzichini, E. et al. Measuring airway inflammation in asthma; eosinophils and eosinophilic cationic protein in induced sputum compared with peripheral blood. – *J. Allergy Clin. Immunol.*, **99**, 1997, 539-544.
39. Yazicioglu, M. et al. The significance of sputum ECP levels in differential diagnosis of asthma in children. – *J. Asthma*, **36**, 1999, № 6, 493-502.
40. Zagai, U. et al. The effect of eosinophils on collagen gel contraction and implications for tissue remodelling. – *Clin. Exp. Immunol.*, **135**, 2004, № 3, 427-433.